

## 기능성 표방 식품 중 부정유해물질의 탐색 및 분석법 검증

정재훈<sup>†</sup> · 박성아 · 김병준 · 윤호철 · 이지윤 · 권현정 · 조현철  
식품분석과

### Search and Analysis Method Verification of Illegal Compounds in Foods Claimed Functionality

Jeong Jae-hun<sup>†</sup>, Park Sung-ah, Kim Byeong-jun, Yun Ho-cheol,  
Lee Ji-yoon, Kwon Hyeon-jeong and Jo Hyeon-cheol

Food Analysis Division

#### Abstracts

We had analyzed 72 samples, which were purchased online and offline stores in Busan, about 60 kinds of illegal compounds using LC/PDA, and LC/MS/MS. As a result of the test, 'Sildenafil and Tadalafil' of illegal substances were detected 6 out of 72 samples purchased from the Internet ; Sildenafil(529.0 - 2211.6 mg/kg) was detected in 4 samples, Tadalafil(437.9 mg/kg, 26549.0 mg/kg) was detected in 1 sample, and both Sildenafil and Tadalafil were detected in 1 sample, respectively.

In recovery rates test of the appearance types, the recovery rate of Sildenafil was showed 97.5 - 106.6 %, Tadalafil was showed 91.2 - 101.9 %, both excluding liquid(oil) type. In the recovery rates test of liquid(oil) types, Sildenafil was detected 54.7 %, Tadalafil 78.1 % and these values were significantly lower than the other types.

In the validation test of LC/PDA, and LC/MS/MS in Method I, R square(coefficient of determination) values of Sildenafil and Tadalafil pre-treated samples are showed over 99.9 % linearity. In LC/PDA test, LOD levels of Sildenafil and Tadalafil were 0.04 mg/kg, 0.02 mg/kg, respectively, and LOQ levels of Sildenafil and Tadalafil were 0.11 mg/kg, 0.05 mg/kg, respectively. But in LC/MS/MS test, LOD levels of Sildenafil and Tadalafil were 0.26 mg/kg, 0.2 mg/kg, respectively, and LOQ levels of Sildenafil and Tadalafil were 0.79 mg/kg, 0.61 mg/kg, respectively. In addition, Standard deviations of quantitative range of Sildenafil and Tadalafil obtained in repeated measurements of samples were 0.02 mg/kg, 0.01 mg/kg, respectively. But in LC/MS/MS test, Standard deviations of quantitative range of Sildenafil and Tadalafil obtained in repeated measurements of samples were 0.11 mg/kg, 0.14 mg/kg, respectively. This means that LC/MS/MS has less lower accuracy and precision than LC/PDA.

We experimented to find out the recovery rates of 2 kinds of Thyroid hormone(T3, T4) through the Methods I and II, and as a result of the test, T3 showed 89.6 - 109.9 % recovery rates in Method I and T4 showed 103.0 - 107.0 % recovery rates. On the other hand, T3 showed 38.5 - 46.1 % recovery rates and T4 showed 39.7 - 48.3 % in Method II. This allowed us to confirm that Method I is remarkably superior to Method II to increase recovery rates in pre-treatment method of 2 kinds of Thyroid hormone(T3, T4).

Through the identified test method in this study, we can contribute to build food safety management system by continuously monitoring food containing illegal compounds on the market.

**Key words** : Illegal compounds, Sildenafil, Tadalafil, Thyroid hormone, LC/PDA, LC/MS/MS

---

<sup>†</sup> *Corresponding author.* E-mail : bbbb1366@korea.kr  
Tel : +82-51-309-2835, Fax : 82-51-309-2839

## 서 론

식품 중 부정물질이란 '정당하지 않은 방법으로 제조한 인체의 건강을 해할 우려가 있는 물질을 말하는 것으로 발기부전치료제, 당뇨병치료제, 비만치료제 및 그 유사물질, 갑상선 호르몬제 등의 의약품이 포함된다<sup>1)</sup>.

이러한 부정물질은 식품위생법 및 공전에 의거하여 관리되고 있는데 「식품위생법 제4조(위해식품 등의 판매 등 금지) 제2항」에 따라 유독, 유해물질이 들어 있거나 묻어 있는 것 또는 그러할 염려가 있는 것의 사용이 금지되어 있으며, 「동법 제6조(기준·규격이 고시되지 아니한 화학적 합성품 등의 판매 등 금지) 제 1항」에 따라 기준·규격이 고시되지 아니한 화학적 합성품인 첨가물과 이를 함유한 물질을 식품첨가물로 사용하는 행위가 금지되어 있다. 또한 「식품공전 제2 식품일반에 대한 공통기준 및 규격 5. 식품일반의 기준 및 규격 12) 발기부전치료제 등과 유사한 물질 기준」에서 발기부전치료제·당뇨병치료제·비만치료제 등과 화학구조가 근원적으로 유사한 합성물질의 사용을 금지하고 있다.

그러나 소득 수준이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심이 증가되어 다양한 생리활성기능을 가진 건강기능식품의 시장이 크게 증가하고 있다. 통계청 자료에 따르면 건강기능식품 출하액이 2005년 6330억 이던 것이 2012년 1조 3510억으로 2배 이상 증가하였다<sup>2)</sup>. 그와 더불어 일부 건강기능식품들은 식품에 첨가할 수 없는 부정물질을 사용한 제품을 천연성분의 제품인 양 허위 광고하고 그 효능을 과장 광고하고 있다.

특히 성기능 관련 부정물질의 검출빈도가 증가하고 있는데 2012년 5월 화이자제약의 비아그라의 주성분인 Sildenafil의 물질특허가 만료됨에 따라 저가의 복제약 시장이 활성화 되었고 그로 인한 불법

유통의 가능성이 증가 되었다.

또한 식습관의 서구화 및 외모 가꾸기에 재화와 여가를 소비하는 경향이 증가됨에 따라 천연성분이란 허위광고를 믿고 비만치료 및 다이어트 목적으로 부정물질 혼입 우려가 있는 식품을 구매하는 경우가 빈번한 실정이다.

HPLC를 이용한 성기능 관련 부정물질의 규명 및 동시분석법 개발에 대한 국내외 논문이 다수 있으며<sup>3-17)</sup>, LC/MS/MS를 이용한 동시분석법 개발<sup>18)</sup>도 연구되고 있으나 꾸준히 증가하는 식품 중 부정물질의 모니터링 차원에서 다수의 부정물질 성분에 대한 효율적인 분석연구가 필요한 실정이다.

본 연구는 식품 중 혼입이 예상되는 다양한 부정물질에 대한 HPLC/PDA를 이용한 동시분석 및 LC/MS/MS를 이용한 정성분석을 통해 시중에서 유통되고 있는 식품 중 부정물질의 실태를 조사하고 유통차단에 기여하기 위해 offline 및 online상에서 성기능 개선, 미용 개선 등을 표방한 건강기능식품, 기타가공품, 다류, 음료류 등 총72개 제품에 대하여 성기능 관련 부정물질 43종, 당뇨병치료제 4종, 비만관련 부정물질 11종, 갑상선 호르몬제 2종 등 총 60종의 부정물질을 분석하였다. 또한 이 과정에서 검출된 성분에 대한 HPLC/PDA 및 LC/MS/MS의 회수율, 직선성(결정계수), 검출한계, 정량한계 등을 비교 연구하였으며 분석법의 근거가 불명확한 식품 중의 갑상선 호르몬제의 분석법관련 유효성을 비교 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 연구에 사용된 검체는 2013년 8월에서 12월 사이에 부산지역 offline 매장 및 online상의 제품을 시청 특별사법경찰과의 협조로 수거하였다. 검체

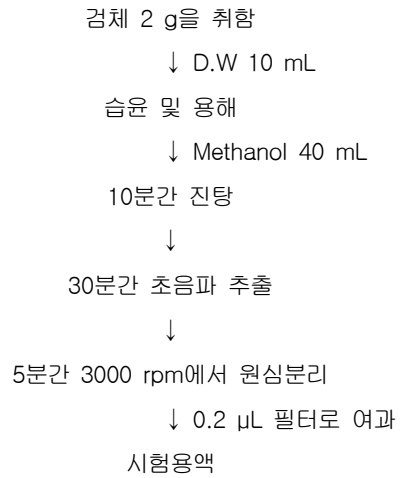
유형으로는 건강기능식품, 기타가공품, 체중조절용 조제식품, 다류, 음료류 등 72건을 수거하였으며 식품유형별, 성상유형별, 구매유형별 자세한 현황은 Table 1에 나타내었다.

부정물질 60종의 표준물질은 식품의약품안전평가원으로부터 제공 받았다. 시약은 sodium 1-hexanesulfonate, phosphoric acid, ammonium formate는 Merck(Germany)사 제품을 사용하였고 용매로서 Methanol 및 Acetonitrile은 HPLC grade로 역시 Merck(Germany)사 제품을 사용하였으며, 물은 3차증류수를 사용하였다.

**실험방법**

**1) 부정물질 60종 분석**

부정물질 분석을 위해 72건의 검체를 대상으로 식품공전(2013) 및 식품의약품안전평가원의 식품 중 부정물질 분석법(2013)<sup>1)</sup>에 의해 검체를 전처리 하였으며 부정물질 분석항목 60종 중 58종은 식품공전(2013) 시험법인 Method I(Fig. 1)에 의해, 갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)은 식품의약품안전평가원의 식품 중 부정물질 분석법(2013)의 시험법인 Method II(Fig. 2)로 전처리하였다.



**Fig. 1.** Pretreatment of test samples by Method I.

부정물질 60종의 LC/PDA 및 LS/MS/MS의 분석조건은 Table 2에 나타내었다. 분석시간의 단축을 위해 Waters사의 UPLC column을 사용하였으며 식품 중의 다양한 matrix를 분석 초반부에 유출시키고 분석하고자 하는 성분을 중반 이후에 검출되게끔 함으로써 분석 대상물질의 분리능을 향상시켰다.

부정물질 60종을 기능별로 나누어 Table 3에 나타내었으며, Table 4에 나타낸 바와 같이 9개 그룹(Group A - I)으로 나누어 Group A, B, C, F는

**Table 1.** Types of test samples

Types	Food types (number)	Appearance types (number)	Purchase typse (number)
Total number (72)	health functional foods(15)	liquid(11)	water(4)
	processed other goods(21)		acetum(3)
	dietary supplements(4)		sugar(1)
	tea(4)		oil(3)
	beverage(3)		doubtful maker crude materials(23)
	crude materials(23)	pill(23)	police request(1)
	no label(2)	tablet(7)	
		granule(3)	
		powder(28)	

health functional foods(15)  
 processed other goods(21)  
 dietary supplements(4)  
 tea(4)

liquid(11)

water(4)  
 acetum(3)  
 sugar(1)  
 oil(3)

off-line(23)  
 internet(18)  
 doubtful maker products(7)  
 doubtful maker crude materials(23)  
 police request(1)

Total number (72)

beverage(3)

crude materials(23)

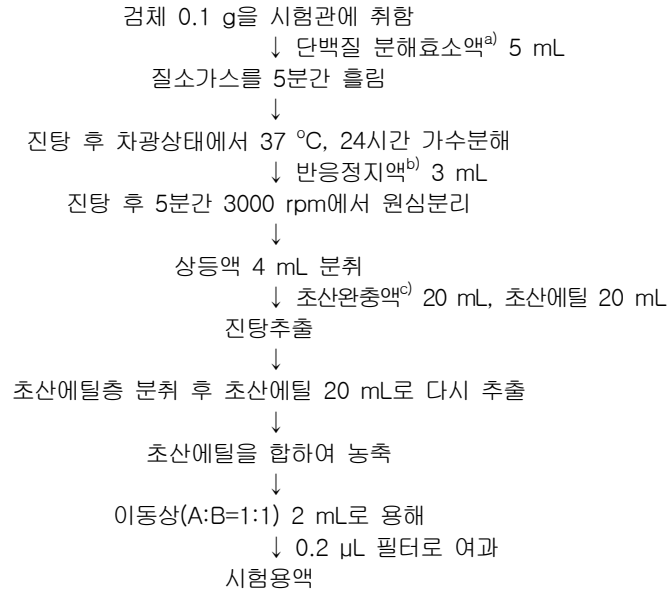
no label(2)

pill(23)

tablet(7)

granule(3)

powder(28)



<sup>a)</sup>Protease 40 mg in Tris amino methane, <sup>b)</sup>Phosphoric acid 1 mL in Acetonitrile 100 mL, <sup>c)</sup>0.2 M Sodium acetate(pH 5.0)

**Fig. 2.** Pretreatment of test samples by Method II.

**Table 2.** Analysis condition of LC/PDA and LC/MS/MS

Items	Condition							
	LC/PDA				LC/MS/MS			
Analysis equipment	Waters(US) ACQUITY UPLC H Class				Thermo scientific(US) TSQ Quantum Ultra			
Column	Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm×2.1 mm ID, particle size 1.7 µm)				Thermo scientific Hypersil Gold (150 mm×2.1 mm ID, particle size 5 µm)			
Mobile phase	A :	0.1 % sodium-1-hexane sulfonate in 0.1 % phosphoric acid in water			10 mM ammonium formate in water			
	B :	95 % Acetonitrile			100 % Acetonitrile			
Gradient table	time (min)	flow (mL/min)	A (%)	B (%)	time (min)	flow (mL/min)	A (%)	B (%)
		0.3	90	10		0.5	80	20
	1.0	0.3	90	10	5.0	0.5	80	20
	3.0	0.3	75	25	15.0	0.5	20	80
	5.0	0.3	65	35	19.0	0.5	80	20
	8.0	0.3	60	40	20.0	0.5	80	20
	9.5	0.3	50	50				
	11.5	0.3	0	100				
	15.5	0.3	0	100				
	16.0	0.3	90	10				
	18.0	0.3	90	10				
Flow rate	0.3 mL/min				0.5 mL/min			
Column temperature	40 °C				40 °C			
Injection volume	2 µL				10 µL			
Analysis wavelength	UV 210, 220, 291 nm(190 - 400 nm)				-			
Ionization mode	-				Electron spray ionization(ESI)			
Spray voltage	-				400 V			
Capillary temperature	-				340 °C			

**Table 3.** Functional classification types about 60 kinds of illegal compounds

Functional classification types	for sexual function(43 compounds)			others(17 compounds)				
	anti-impotence drugs (5 compounds)	mimetic substances (36 compounds)	other substances (2 compounds)	antidiabetics (4 compounds)	for obesity(11 items)		thyroid hormone drugs (2 compounds)	
					diet pills (3 compounds)	other substances (8 compounds)		
Illegal compounds (total 60 compounds)		Acetaminotadalafil	Hongdenafil					
		Acetyl-acid	Hydroxychlorodenafil					
		Acetylvaridenafil	Hydroxyhomosildenafil					
		Aminotadalafil	Hydroxyhongdenafil					
		Benzylsildenafil	Hydroxythiohomosildenafil					
		Carbodenafil	Hydroxyvaridenafil				Cascara sagrada(A,B,C,D)	
		Chlorodenafil	Imidazosagatriazinone				Desmethyisbutramine	
		Mirodenafil	Chloropretadalafil	Nitrodenafil	Glibenclamide	Sibutramine	Didesmethyisbutramine	
		Sildenafil	Cinnamylidenafil	Norneosildenafil	Icariin	Gliclazide	Ephedrine	Thyronine(T3)
		Tadalafil	Cyclopentynafil	Norneovardenafil	Yohimbin	Glipizide	Fenfluramine	Thyroxine(T4)
		Udenafil	Demethylhongdenafil	Octylnortadalafil		Glimepiride	Fluoxetine	
		Vardenafil	Demethyltadalafil	Oxohongdenafil			N-nitrosofenfluramine	
			Desulfovardenafil	Piperidinohongdenafil			Phenolphthalein	
			Dichlorodenafil	Pseudovardenafil			Sennoside(A,B)	
			Dimethylsildenafil	Thiohomosildenafil				
			Dimethylthiosildenafil	Thioquinapiperifil				
			Gendenafil	Thiosildenafil				
			Homosildenafil	Xanthoantrafil				

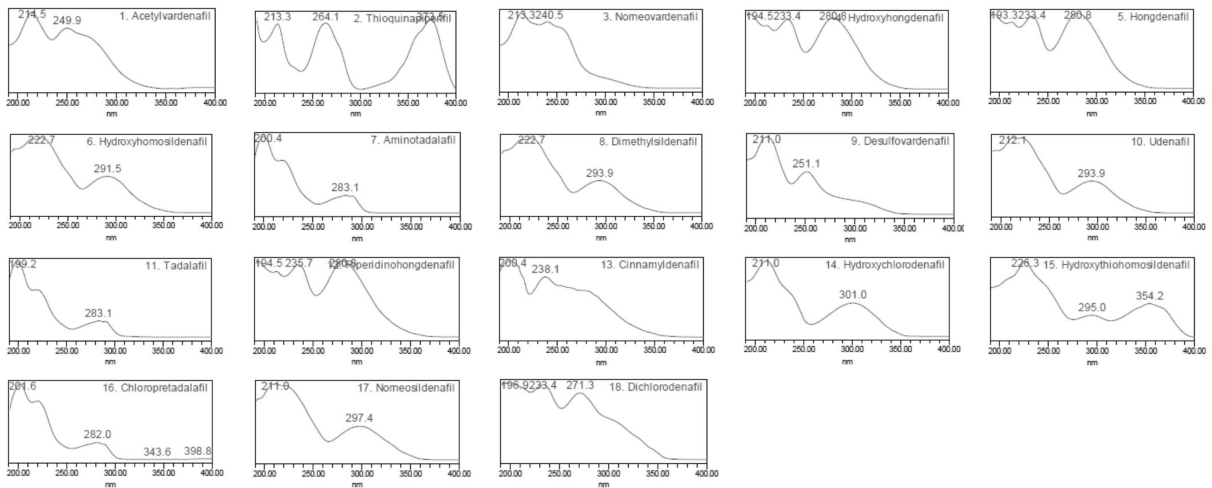
**Table 4.** Analysis group and wavelength about 60 kinds of illegal compounds

Analysis group (analysis wavelength)	Group A (291 nm)	Group B (291 nm)	Group C (291 nm)	Group D (210 nm)	Group E (210 nm)	Group F (291 nm)	Group G (220 nm)	Group H (210 nm)	Group I (210 nm)
Illegal compounds (total 60 compounds)	Acetylvaridenafil								
	Thioquinapiperifil		Yohimbin						
	Norneovardenafil		Vardenafil						
	Hydroxyhongdenafil		Carbodenafil						
	Hongdenafil		Icariin	Hydroxyvaridenafil					
	Hydroxyhomosildenafil		Demethylhongdenafil	Acetaminotadalafil	Sennoside(A,B)				
	Aminotadalafil		Oxohongdenafil	Demethyltadalafil	Fenfluramine				
	Dimethylsildenafil		Sildenafil	Acetyl-acid	Phenolphthalein		Glipizide		
	Desulfovardenafil		Homosildenafil	Benzylsildenafil	Didesmethyisbutramine	Ephedrine	Cascara sagrada	Gliclazide	Thyronine(T3)
	Udenafil		Xanthoantrafil	Pseudovardenafil	Sibutramine	Fluoxetine		Glibenclamide	Thyroxine(T4)
	Tadalafil		Cyclopentynafil	Gendenafil	Desmethyisbutramine			Glimepiride	
	Piperidinohongdenafil		Mirodenafil	Thiohomosildenafil	N-nitrosofenfluramine				
	Cinnamylidenafil		Thiosildenafil	Chlorodenafil					
	Hydroxychlorodenafil		Dimethylthiosildenafil	Imidazosagatriazinone					
	Hydroxythiohomosildenafil		Nitrodenafil						
	Chloropretadalafil		Octylnortadalafil						
	Norneosildenafil								
	Dichlorodenafil								

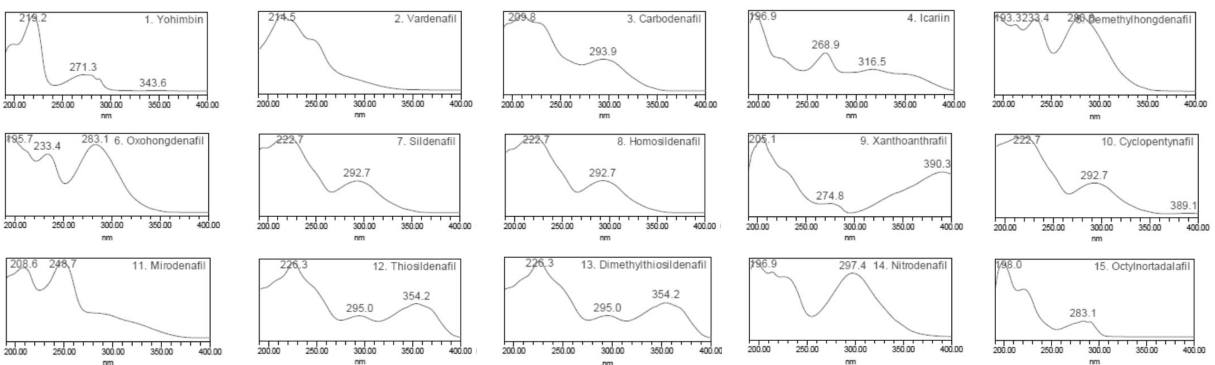
291 nm 파장에서, Group D, H, I는 210 nm 파장에서, Group G는 220 nm 파장에서 각각 분석하여 검체 1건당 총 9번의 processing을 통해 선택성

이 높은 피크 조건에서 분석하였다.

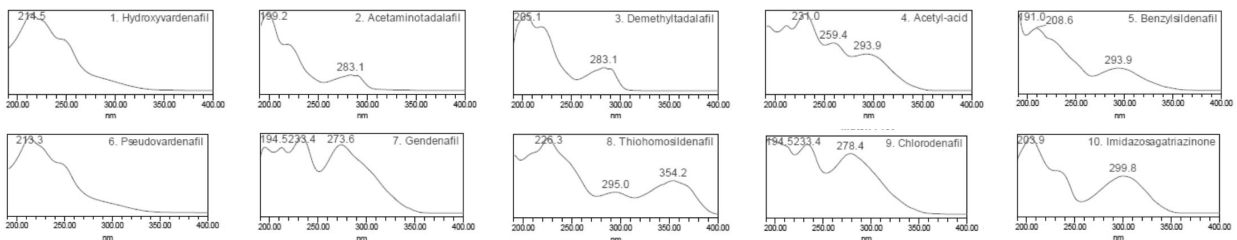
부정물질 60종의 9개 Group에 대한 각각의 spectrum을 Fig. 3 - 11에 나타내었으며 chro-



**Fig. 3.** Spectrum of Group A(1. Acetylvardenafil, 2. Thioquinapiperifil, 3. Nornoevardenafil, 4. Hydroxyhongdenafil, 5. Hongdenafil, 6. Hydroxyhomosildenafilfil, 7. Aminotadalafil, 8. Dimethylsildenafilfil, 9. Desulfovardenafil, 10. Udenafil, 11. Tadalafil, 12. Piperidinohongdenafil, 13. Cinnamyildenafilfil, 14. Hydroxychlorodenafil, 15. Hydroxythiohomosildenafilfil, 16. Chloropretadalafil, 17. Nornoesildenafilfil, 18. Dichlorodenafil).



**Fig. 4.** Spectrum of Group B(1. Yohimbin, 2. Vardenafil, 3. Carbodenafil, 4. Icarin, 5. Demethylhongdenafil, 6. Oxohongdenafil, 7. Sildenafilfil, 8. Homosildenafilfil, 9. Xanthoanthrafil, 10. Cyclopentynafil, 11. Mirodenafil, 12. Thiosildenafilfil, 13. Dimethylthiosildenafilfil, 14. Nitrodenafil, 15. Octylnortadalafil).



**Fig. 5.** Spectrum of Group C(1. Hydroxyvardenafil, 2. Acetaminotadalafil, 3. Demethyltadalafil, 4. Acetyl-acid, 5. Benzylsildenafilfil, 6. Pseudovardenafil, 7. Gendenafil, 8. Thiohomosildenafilfil, 9. Chlorodenafil, 10. Imidazosagatriazinone).

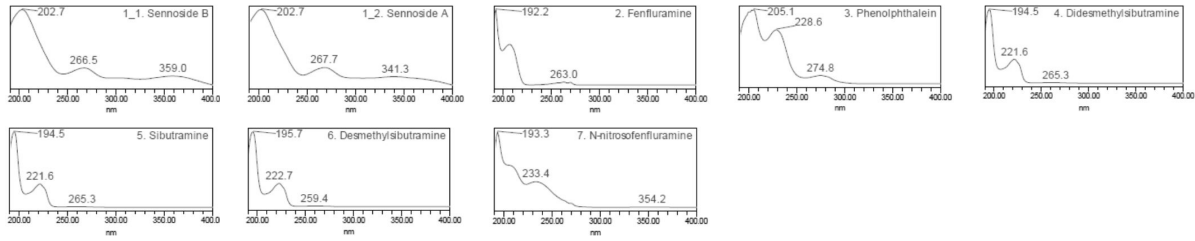


Fig. 6. Spectrum of Group D(1.1. Sennoside(B), 1.2. Sennoside(A), 2. Fenfluramine, 3. Phenolphthalein, 4. Didemethylsibutramine, 5. Sibutramine, 6. Desmethylsibutramine, 7. N-nitrosfenfluramine).

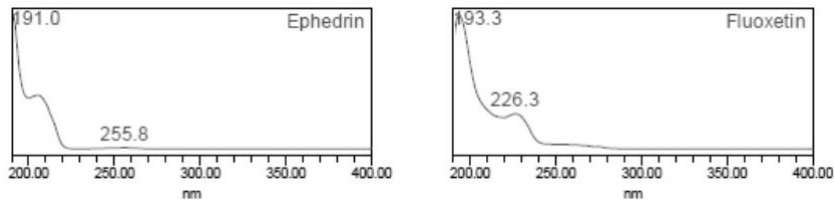


Fig. 7. Spectrum of Group E(1. Ephedrine, 2. Fluoxetine).

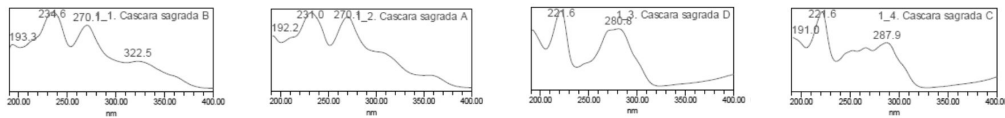


Fig. 8. Spectrum of Group F(1.1. Cascara sagrada B, 1.2. Cascara sagrada A, 1.3. Cascara sagrada D, 1.4. Cascara sagrada C).

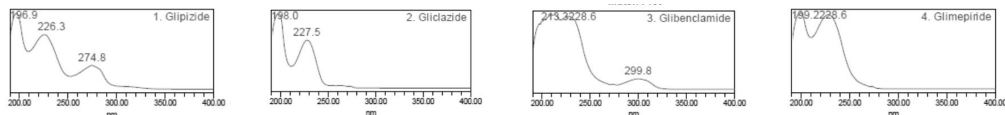


Fig. 9. Spectrum of Group G(1. Glipizide, 2. Gliclazide, 3. Glibenclamide, 4. Glimperide).

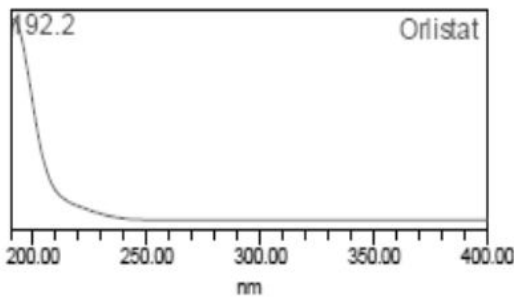


Fig. 10. Spectrum of Group H(Orlistat).

spectrum을 비교하여 1차로 분석한 후 LC/MS/MS를 통해 일치여부를 최종 확인하였다.

## 2) 정상별 회수를 분석 및 유효성 실험

정상별 회수 실험은 검체의 정상별로 액상제(물), 환제, 정제, 과립제, 분말제, 액상제(식초), 액상제(당), 액상제(유지)에 대하여 본 연구에서 검출된 Sildenafil과 Tadalafil을 대상으로 부정물질 60종이 들어 있지 않는 것으로 확인된 검체에 표준물질을 첨가한 후 Method I으로 전처리하여 3회

matogram 상의 머무름시간(RT)과 Library 상의

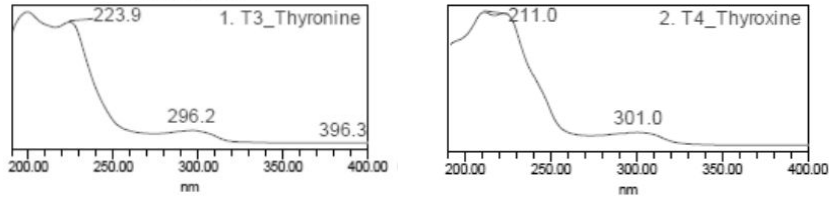


Fig. 11. Spectrum of Group I(1. Thyronine(T3), 2. Thyroxine(T4)).

반복 실험하였다.

LC/PDA 및 LC/MS/MS에대한 유효성 실험은 본 연구에서 검출된 Sildenafil과 Tadalafil을 대상으로 Sildenafil이 검출된 검체 5건과 Tadalafil이 검출된 2건의 검체를 Method I으로 전처리하여 3회 반복 실험하였다.

### 3) 갑상선 호르몬제의 분석법 비교

갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)에 대해서는 검체의 정상별로 식품의약품안전평가원의 식품 중 부정물질 분석법(2013)에 명시된 Method II와 부정물질 분석항목 60종 중 58종의 분석방법인 Method I의 회수율을 상호 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 검출현황 및 LC/MS/MS 확인실험

검체 72건 중 6건의 검체에서 Sildenafil과 Tadalafil이 검출되어 검출률은 8.3 %였다. 식품유형별로는 기타가공품이 5건, 미표시가 1건이었고,

정상별로는 환제가 5건, 액상이 1건이었으며 구매 유형별로는 특사경에서 수거한 5건 및 경찰수사의뢰 1건으로 모두 인터넷에서 구매한 제품이었다. 검체중 Sildenafil과 Tadalafil이 검출된 현황은 Table 5에 나타난 것과 같이 6건 중 5건에서 Sildenafil이 529.0 - 2211.6 mg/kg 검출 되었으며, 2건에서 Tadalafil이 437.9 mg/kg, 26519.0 mg/kg 검출 되었고, 이들 중 1건은 Sildenafil, Tadalafil이 함께 검출되었다. 본 연구에서 검출된 Sildenafil과 Tadalafil을 제품에 표시된 용법을 적용하여 환산한 추정일일섭취량은 Table 5에 나타난 것과 같으며 Sildenafil과 Tadalafil의 각각의 일일권장량인 50 mg, 10 mg이하로 나타났다.

Fig. 12, 13에서와 같이 표준물질과 검체중의 물질의 머무름시간(RT)가 일치하였으며 검체중의 대부분의 matrix가 분석 전반부에 유출되어 다른 matrix와 중첩됨이 없는 선명한 분리를 보였다.

Table 6에 LC/MS/MS를 통한 최종 확인 실험을 위한 Sildenafil과 Tadalafil의 precursor ion 및

Table 5. Contents and Estimated daily intakes of illegal compounds detected from test samples

Test samples		8-22-1	9-12-24	9-12-25	9-12-27	9-12-28	police-1
Contents of illegal compounds (mg/kg)	Sildenafil	667.1	2211.6	529.0	749.6	738.5	-
	Tadalafil	-	437.9	-	-	-	26519.0
Estimated daily intakes (mg/day)	Sildenafil	2.0	7.1 - 13.3	1.7 - 3.2	2.2	2.2	-
	Tadalafil	-	1.4 - 2.6	-	-	-	no label

<sup>a)</sup>Recommended daily requirements of Sildenafil : 50 mg/day

<sup>b)</sup>Recommended daily requirements of Tadalafil : 10 mg/day



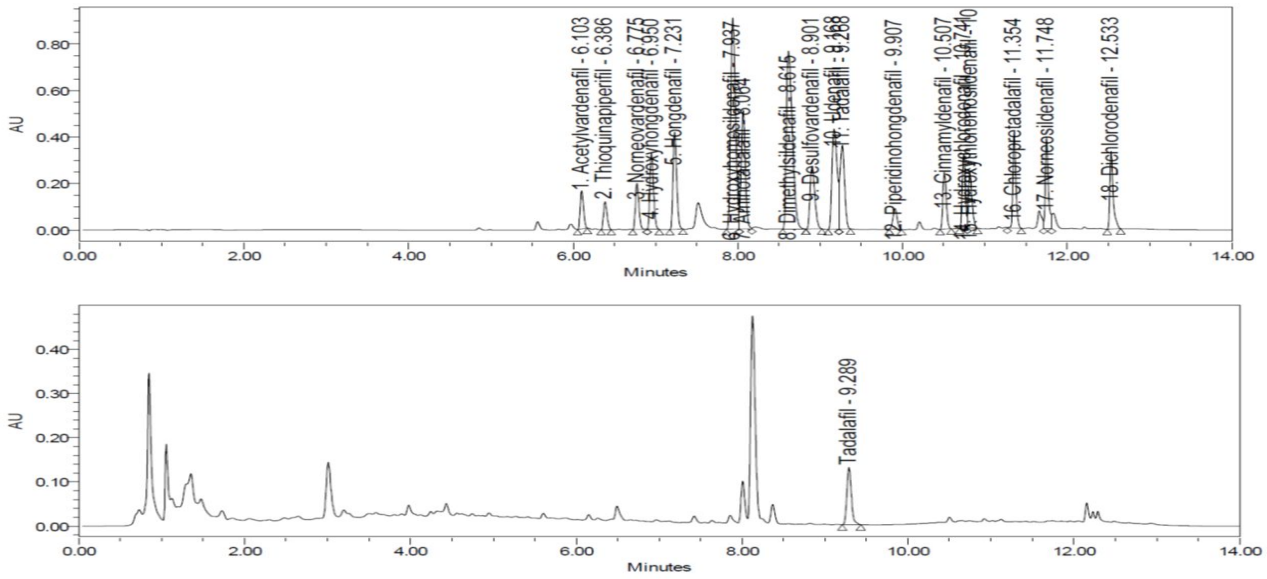


Fig. 12. LC chromatograms of Group A and test sample.

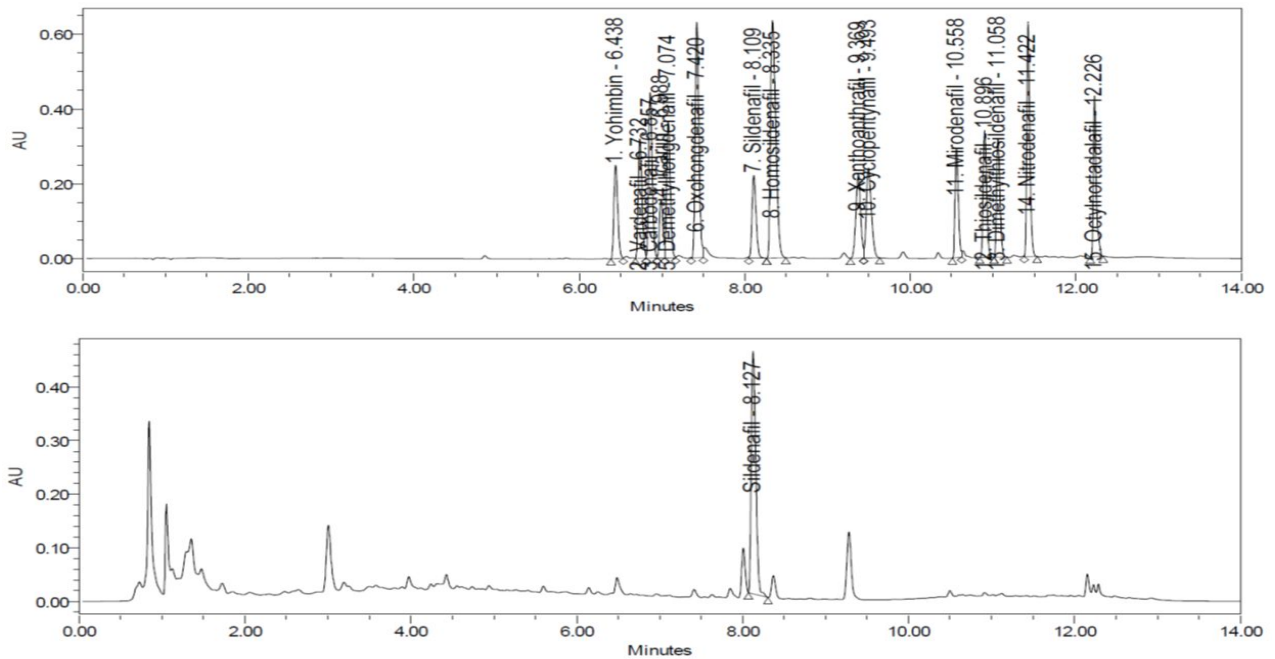


Fig. 13. LC chromatograms of Group B and test sample.

product ion의 MS(m/z)값을 나타내었으며 기존의 연구결과<sup>19-21,25)</sup>에서는 각각 3개의 product ion과 비교하였으나 본 실험에서는 모든 product ion을 비교하였다. 또한 정량분석을 위해서 상대이온농도(Relative ion intensity)가 높은 product ion

2개씩을 선택하여 검량선을 작성하였다.

국제식품규격위원회(CAC)에서는 질량분석기술을 이용한 분석에 있어서 상대이온농도(Relative ion intensity)에 대해 허용오차 범위이내 일 것을 요구하고 있다<sup>22)</sup>. Fig. 14, 15에서 보는 바와 같이

**Table 6.** Selective ion mode and MS fragments data of Sildenafil, Tadalafil in ESI

Illegal compounds	Formula	Mass	mode	Precursor ion (m/z)	Product ion(m/z)	
					Qualitative analysis	Quantitative analysis
Sildenafil	C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> N <sub>6</sub> O <sub>4</sub> S	474.5	ESI +	475.3	70.20	
					99.20	
					100.21	
					254.22	100.21
					283.30	283.30
					299.27	
					311.33	
Tadalafil	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	389.4	ESI +	390.1	135.01	
					169.08	
					197.29	
					204.87	169.08
					240.02	268.18
					262.07	
					264.27	
					268.18	

Sildenafil과 Tadalafil의 표준물질과 검체의 production의 강도가 Table 7에 나타난 CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION(2007)에서 제시한 허용오차 이내였음을 알 수 있다.

정성적으로 볼 때 표준품과 검체의 LC chromatogram상의 RT가 일치하고 LC/MS/MS에서의 상대이온강도(Relative ion intensity)가 허용 오차

**Table 7.** Efficiency requirements for relative ion intensity(CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION 2007)

Relative ion intensity	LC-MS/MS
>50 %	≤20 %
20 % - 50 %	≤25 %
10 % - 20 %	≤30 %

Sildenafil(st)#1053 RT: 8.65  
T: + c ESI SRM ms2 475.397 [70.195-70.197, 99.195-99.197, 100.211-100.213, 25 ...  
m/z= 70.19-311.33

m/z	Intensity	Relative
70.20	906712.6	9.96
99.20	5980191.5	65.69
100.21	8203342.0	90.11
254.22	1710285.3	18.79
283.30	9103617.0	100.00
299.27	1723867.8	18.94
311.33	3391388.8	37.25

9-12-24#1054 RT: 8.66  
T: + c ESI SRM ms2 475.397 [70.195-70.197, 99.195-99.197, 100.211-100.213, 25 ...  
m/z= 70.19-311.33

m/z	Intensity	Relative
70.20	2784253.5	9.75
99.20	18736282.0	65.59
100.21	24867402.0	87.05
254.22	5458999.5	19.11
283.30	28566236.0	100.00
299.27	5375908.5	18.82
311.33	10791534.0	37.78

**Fig. 14.** MS fragments data of Sildenafil and test sample.

Tadalafil(st)\_130923215405#981 RT: 8.07  
T: + c ESI SRM ms2 390.100 [135.008-135.010, 169.078-169.080, 197.286-197.288 ...  
m/z= 135.01-268.18

m/z	Intensity	Relative
135.01	773135.3	32.23
169.08	612770.7	25.55
197.29	196330.6	8.19
204.87	388535.3	16.20
240.02	324341.4	13.52
262.07	764732.1	31.88
264.27	126875.7	5.29
268.18	2398599.0	100.00

9-12-24#982 RT: 8.08  
T: + c ESI SRM ms2 390.100 [135.008-135.010, 169.078-169.080, 197.286-197.288 ...  
m/z= 135.01-268.18

m/z	Intensity	Relative
135.01	573543.3	30.86
169.08	444828.8	23.94
197.29	161199.9	8.67
204.87	298127.5	16.04
240.02	237455.3	12.78
262.07	658533.4	35.44
264.27	92434.0	4.97
268.18	1858338.0	100.00

**Fig. 15.** MS fragments data of Tadalafil and test sample.

범위에서 일치하므로 검체에서 검출된 물질이 표준품과 서로 일치 한다는 것을 확인 할 수 있었다.

**성상별 회수율 분석 및 유효성 실험**

Sildenafil과 Tadalafil에 대한 Method I의 회수율 실험결과는 Table 8에 나타난 바와 같이 성상별로 100 %에 근접한 결과를 보였으나 액상제(유지)에서는 전처리 중 유지성분의 방해로 인해 Sildenafil의 회수율은 54.7 %, Tadalafil의 회수율은 78.1 %로 현저히 낮은 회수율을 나타내었다. 이는 액상제(유지)경우를 제외하면 91.2 - 1052 %의

회수율 수준으로 Lee 등<sup>25)</sup>의 95 - 110 %, Choi 등<sup>27)</sup>의 95 - 100 %와 비슷한 결과를 나타내었다.

LC/PDA 및 LC/MS/MS의 Method I에 대한 유효성 실험에 대한 결과를 Table 9에 나타내었으며, Sildenafil, Tadalafil에 대한 R square(coefficient of determination)값은 모두 99.9 % 이상의 직선성을 나타내었고, Choi 등<sup>27)</sup>의 99.6 %와 비슷한 결과였다. LC/PDA의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 LOD값은 각각 0.04 µg/mL, 0.02 µg/mL로 Choi 등<sup>27)</sup>의 0.04 µg/mL, 0.02 µg/mL와 일치하였고, Lee 등<sup>25)</sup>의 0.02 - 0.2 µg/mL 보다는

**Table 8.** Recovery Rates of Sildenafil and Tadalafil from test samples by Method I

Types of test samples	Recovery Rates%(n=3)			
	Sildenafil		Tadalafil	
	Mean ± S.D	%RSD	Mean ± S.D	%RSD
liquid(water)	105.2 ± 0.6	0.5	101.9 ± 0.7	0.7
pill	97.5 ± 0.3	0.3	92.6 ± 0.3	0.3
tablet	106.6 ± 0.1	0.1	98.7 ± 0.2	0.2
granule	104.3 ± 0.2	0.1	94.9 ± 0.4	0.4
powder	104.2 ± 0.0	0.0	94.3 ± 0.1	0.1
liquid(acetum)	97.9 ± 3.3	3.4	91.2 ± 0.3	0.3
liquid(sugar)	101.8 ± 2.4	2.3	93.4 ± 0.2	0.2
liquid(oil)	54.7 ± 2.0	3.6	78.1 ± 0.2	0.2

**Table 9.** Analytical method validation Data of LC/PDA and LC/MS/MS by Method I

Validation data	Sildenafil <sup>a)</sup>		Tadalafil <sup>b)</sup>	
	LC/PDA	LC/MS/MS	LC/PDA	LC/MS/MS
R <sup>2c)</sup>	0.9999	0.9997	0.9998	0.9999
LOD(µg/mL) <sup>d)</sup>	0.04	0.26	0.02	0.20
LOQ(µg/mL) <sup>e)</sup>	0.11	0.79	0.05	0.61
σ(µg/mL) <sup>f)</sup>	0.02	0.11	0.01	0.14
Quantitative rate(% <sup>g)</sup>	107.6		92.0	

<sup>a)</sup>Detected sample case(n=5, replication=3)

<sup>b)</sup>Detected sample case(n=2, replication=3)

<sup>c)</sup>Coefficient of determination

<sup>d)</sup>Limit of Detection(3.3 × Standard deviation of the Area/Slope)

<sup>e)</sup>Limit of Quantitation(10 × Standard deviation of the Area/Slope)

<sup>f)</sup>Standard deviation of contents from quantitative analysis

<sup>g)</sup>100 × [Quantity of LC/PDA] / [Quantity of LC/MS/MS]

다소 낮은 결과를 나타내었다. 또한 LOQ값은 각각 0.11 µg/mL, 0.05 µg/mL로 Lee 등<sup>25)</sup>의 0.1 - 0.5 µg/mL 보다 낮은 결과를 나타내었다.

LC/MS/MS의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 LOD값은 각각 0.26 µg/mL, 0.20 µg/mL 이었고, LOQ값은 각각 0.79 µg/mL, 0.61 µg/mL 이었다. 또한 시료의 반복측정에서 얻어진 정량값의 표준편차에서도 LC/PDA의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 표준편차는 각각 0.02 µg/mL, 0.01 µg/mL이었으나, LC/MS/MS의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 표준편차는 각각 0.11 µg/mL, 0.14 µg/mL로 나타나 LC/PDA에 비해 LC/MS/MS의 정밀성과 정확성이 낮은 것으로 확인되었다.

#### 갑상선 호르몬제의 분석법 비교

갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)의 회수율 실험은 Method I, II로 나누어 실시하였으며 Table 10에 나타내었다. Method I의 경우 T3, T4의 회수율이 각각 89.6 - 109.9 %, 103.0 - 120.6 %였으나, Method II의 경우 T3, T4의 회수율이 각각 33.6 - 49.7 %, 39.2 - 49.4 %로 나타나 식품의약품안전평가원의 「식품 중 부정물질 분석법(2013)」에 명기된 Method II에 의해 전처리한 검체에서 Method

I에 의한 검체보다 현저히 낮은 회수율을 나타내었다. Method II에 의한 경우 액액분배 추출방식, 농축, 추출용매의 차이로 target 물질의 전량 회수가 어려웠을 것으로 판단된다. 또한 회수율의 %RSD에서도 Table 10에 나타난 바와 같이 Method I의 경우 T3, T4의 회수율 표준편차가 모두 0.1 - 0.4 %였으나, Method II의 경우 T3, T4의 회수율 %RSD가 각각 8.1 - 19.1 %, 0.7 - 9.0 %로 나타나 Method II의 재현성이 상대적으로 낮았다.

이는 갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)에 대한 전처리 방법으로 Method I에 의한 방법이 회수율 및 재현성 측면에서 현저한 우위에 있음을 보여주는 결과이다.

#### 요 약

1. 부산지역 offline 매장 및 online 구매를 통하여 수거된 검체 72건에 대해 부정물질 분석항목 60종을 LC/PDA 및 LC/MS/MS를 이용해 분석한 결과 6건의 검체에서 Sildenafil과 Tadalafil이 검출되었으며 이들 6건은 모두 인터넷에서 구매한 검체였다. 이들 6건 중 5건에서 Sildenafil이 529.0 - 2211.6 mg/kg 검출되었으며, 2건에

**Table 10.** Recovery Rates of Thyroid hormone T3, T4 from test samples

Types of test samples	Recovery Rates%(n=3)							
	Method I				Method II			
	T3		T4		T3		T4	
	Mean ± S.D	%RSD	Mean ± S.D	%RSD	Mean ± S.D	%RSD	Mean ± S.D	%RSD
liquid(water)	105.8 ± 0.4	0.3	107.0 ± 0.4	0.3	46.1 ± 4.5	9.7	48.3 ± 1.4	3.0
pill	109.9 ± 0.3	0.3	104.9 ± 0.3	0.4	33.6 ± 2.9	8.6	39.2 ± 0.6	1.6
tablet	101.7 ± 0.1	0.1	103.0 ± 0.2	0.2	42.7 ± 4.0	9.4	40.6 ± 1.5	3.7
granule	96.2 ± 0.3	0.3	120.6 ± 0.4	0.3	46.9 ± 3.8	8.1	43.0 ± 0.3	0.7
powder	90.7 ± 0.1	0.1	113.8 ± 0.2	0.1	47.0 ± 3.8	8.1	45.7 ± 4.1	9.0
liquid(acetum)	95.0 ± 0.1	0.1	118.6 ± 0.1	0.1	49.7 ± 4.6	9.2	49.4 ± 0.7	1.4
liquid(sugar)	95.4 ± 0.4	0.4	105.7 ± 0.4	0.4	48.4 ± 4.1	8.4	46.5 ± 1.7	3.6
liquid(oil)	89.6 ± 0.1	0.1	103.6 ± 0.1	0.1	38.5 ± 7.4	19.1	39.7 ± 1.0	2.4

서 Tadalafil이 437.9 mg/kg, 26549.0 mg/kg 검출되었고, 이들 중 1건은 Sildenafil과 Tadalafil이 함께 검출되었다.

2. 정상유형별 회수율 실험에서 Sildenafil은 액상제(유지)를 제외한 유형에서 97.5 % - 106.6 %의 회수율을 나타내었고 Tadalafil은 액상제(유지)를 제외한 유형에서 91.2 % - 101.9 %의 회수율을 나타내었다. 액상제(유지)의 회수율은 Sildenafil 54.7 %, Tadalafil 78.1 %로 다른 유형에 비해 현저히 낮은 결과를 보였다.

LC/PDA 및 LC/MS/MS의 Method I에 대한 유효성 검증 실험에서 전처리한 시료의 Sildenafil, Tadalafil에 대한 R square(coefficient of determination)값은 모두 99.9 % 이상의 직선성을 나타내었다. LC/PDA의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 LOD값은 각각 0.04 mg/kg, 0.02 mg/kg이었고, LOQ값은 각각 0.11 mg/kg, 0.05 mg/kg이었으나, LC/MS/MS의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 LOD값은 각각 0.26 mg/kg, 0.20 mg/kg이었고, LOQ값은 각각 0.79 mg/kg, 0.61 mg/kg이었다. 또한 시료의 반복측정에서 얻어진 정량값의 표준편차에서도 LC/PDA의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 표준편차는 각각 0.02 mg/kg, 0.01 mg/kg이었으나, LC/MS/MS의 경우 Sildenafil, Tadalafil에 대한 표준편차는 각각 0.11 mg/kg, 0.14 mg/kg로 나타나 LC/PDA에 비해 LC/MS/MS의 정밀성과 정확성이 낮은 것으로 확인되었다.

3. 갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)에 대한 Method I, II의 회수율 실험에서 Method I은 T3에서 89.6 % - 109.9 %의 회수율을, T4에서는 103.0 % - 107.0 %의 회수율을 나타내었으며, Method II는 T3에서 38.5 % - 46.1 %의 회수율을, T4에서

39.7 % - 48.3 %의 회수율을 나타내었다. 이는 갑상선 호르몬제 2종(T3, T4)에 대한 전처리 방법으로 Method I에 의한 방법이 회수율면에서 현저한 우위에 있음을 확인할 수 있었다.

4. 본 연구에서 확인된 시험방법을 통해 시중에 음성적으로 유통되고 있는 부정물질을 함유한 식품을 지속적으로 모니터링 함으로써 부정불량식품의 유통근절을 위한 식품안전체계 구축에 기여할 수 있을 것이다.

### 참고문헌

1. 식품의약품안전평가원, Analytical Methods of Illegal Compounds in Food(2013)
2. 식품의약품안전처 통계집, 2012년도 식품 및 식품첨가물 생산실적 통계. Availablefrom: <http://www.mfds.go.kr/index.do?mid=690>(2013)
3. 식약청 용역연구사업 연구결과보고서, 서울대학교, 김득준, 성기능강화관련 등 부정유해물질 탐색 및 확인(2006)
4. 식품 중 부정물질 분석, 행정간행물(11-147050-000001-14)(2011. 11.)
5. 식약청 용역연구사업 연구결과보고서, 서울대학교, 김득준, 식품 중 신종 부정유해물질의 사전예측적 합성 및 실태조사(2007)
6. 식약청 용역연구사업 연구결과보고서, 서울대학교, 김득준, 신종 부정유해물질의 사전예측적 합성 및 표준품 관리(2008)
7. 식약청 자체연구개발과제 보고서, 화학물질과, 최동미, 식품 중 부정물질 안전평가 연구 - 데스 메틸시부트라민 등 비만, 당뇨 관련 유사물질 실태조사 및 신물질 규명(2009)
8. 식약청 용역연구개발과제 보고서, 서울대학교, 김득준, 식품 중 신종유해물질 실태조사 및 표

- 준품 합성-(옥소홍데나필 등 발기부전치료제 유사물질 실태조사 및 표준품 합성)(2009)
9. 식약청 용역연구개발과제 보고서 식품 중 부정 물질 탐색 및 합성-발기부전치료제, 비만치료제 등 관련 유사물질(2010)
  10. 식약청 용역연구개발과제 보고서 식품 중 발기부전치료제 유사물질 등 신중부정물질의 표준품 합성연구(2011)
  11. 식품안전관리지침(2012)
  12. 식품의약품안전평가원 자체연구개발과제 보고서, 첨단분석팀, 불법 혼입 성분에 대한 첨단 분석법 연구(2011)
  13. 식품의약품안전평가원 자체연구개발과제 보고서, 화학물질과, 식품(주류 포함) 중 신규부정 물질 탐색 및 규명 연구-발기부전치료제, 비만 치료제 유사물질 등(2011)
  14. Shin MH, Hong MK, Kim WS, Lee YJ, Jeong YC., "Identification of a new analogue of sildenafil added illegally to a functional food marketed for penile erectile dysfunction", *Food Addit. Contam*, 20: 793 - 796(2003)
  15. Zou P, Hou P, Oh SS, Chong YM, Bloodworth BC, Low MY, Koh HL., "Isolation and identification of thiohomosildenafil and thiosildenafil in health supplements", *J. Pharm. Biomed. Anal*, 47: 279 - 284(2008)
  16. Reepmeyer JC, d'Avignon DA., "Structure elucidation of thioketone analogues of sildenafil detected as adulterants in herbal aphrodisiacs", *J. Pharmaceut. Biomed*, 49: 145 - 150(2009)
  17. Reepmeyer JC, d'Avignon DA., "Use of a hydrolytic procedure and spectrometric methods in the structure elucidation of a thiocarbonyl analogue of sildenafil detected as an adulterant in an over-the-counter herbal aphrodisiac", *J. AOAC Int*, 92: 1336 - 1342(2009)
  18. Kim HY, Lee HM, Jang YM, Joo HJ, Jung YH, Lee MS, Park JS, Lee KH., "Development of rapid analytical method of forbidden medicines in dietary supplements using LC-ESI-tandom MS", *Korean J. Food Sci. Technol*, 39: 372 - 379(2007)
  19. Ding L, Hao X, Huang X, Zhang S., "Simultaneous determination of sibutramine and its N-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chroma-tography- electrospray ionization-mass spectrometry Method and clinical applications", *Anal. Chim. Acta* 492: 241 - 248(2003)
  20. Chen J, Lu W, Zhang Q, Jiang X., "Determination of the active metabolite of sibutramine by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry", *J. Chromatogr. B* 785: 197 - 203(2003)
  21. Kim HY, Lee HM, Jang YM, Joo HJ, Jung YH, Lee MS, Park JS, Lee KH., "Development of rapid analytical method of forbidden medicines in dietary supplements using LC-ESI-tandom MS", *Korean J. Food Sci. Technol*, 39, 372 - 379(2007)
  22. Codex alimentarius commission. Report of the 17th session of the codex committee on

- residues of veterinary drugs in foods (Alinorm 08/31/31), Availablefrom: [http://www.cclac.org/documentos/CCRVDf/2008/alinorm/al31\\_31e.pdf](http://www.cclac.org/documentos/CCRVDf/2008/alinorm/al31_31e.pdf).(2007)
23. United States Pharmacopeial Convention  
The United States Pharmacopeia-National Formulary, USP31, NF36, Port City Press, Baltimore, 3398 - 3400(2008)
24. Yoshiyuki Sawabe, Takaomi Tagami, Katsuhiko Yamasaki, Shuzo Taguchi., "Determination of Liothyronine and Levothyroxine in Dietary Supplements by HPLC Using a Pre-column Derivative". *Journal of Health Science*, 57(1) 47 - 52(2011)
25. Lee YC, Kim BS, Yun ES, Kim SD, Chang MS, Park YA, Shin Y, Jung SO, Lee JI, Chae YZ., "Monitoring of Forbidden Medicines as Adulterants in Dietary Supplements Marketed Online by HPLC and ESI-tandom Mass Spectrometry", *KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.* 44(2), 148 - 154(2012)
26. Jang JH, Park KS, Park HK, Koo YE, Choi YJ, Hwang IK, Kim DB., "Simultaneous identification/determination system for sildena-fil, homosildenafil, vardenafil, and tadarafil as adulterants in foods", *J. Food Hyg. Safety* 18: 195 - 201(2003)
27. Choi DM, Im MH, Lee KJ, Kwon KI, Jeong JY, Park GS, Hong MK, Lee CW., "Determining Anti-impotence drug-like compounds in food", *Anal. Sci. Tech.* 17: 520 - 526(2004)